



日 本 国 特 許 庁
JAPAN PATENT OFFICE

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office

出 願 年 月 日

Date of Application:

2000年12月15日

出 願 番 号

Application Number:

特願2000-382449

出 願 人

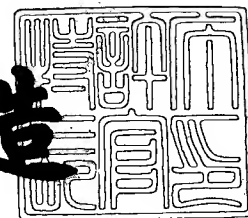
Applicant(s):

オリンパス光学工業株式会社
三井情報開発株式会社

2001年 6月20日

特 許 庁 長 官
Commissioner,
Japan Patent Office

及 川 耕 造



出証番号 出証特2001-3058326

【書類名】 特許願

【整理番号】 A000007584

【提出日】 平成12年12月15日

【あて先】 特許庁長官 殿

【国際特許分類】 C12N 15/09
G06F 15/18
G06F 17/30

【発明の名称】 核酸分子を用いた新規な情報解析方法およびそれを用いた核酸の解析方法

【請求項の数】 9

【発明者】

 【住所又は居所】 東京都新宿区西落合 3 - 2 6 - 1 3

 【氏名】 榊原 康文

【発明者】

 【住所又は居所】 東京都八王子市下柚木 3 - 2 - 6 - 5 0 1

 【氏名】 陶山 明

【発明者】

 【住所又は居所】 東京都渋谷区幡ヶ谷 2 丁目 4 3 番 2 号 オリンパス光学工業株式会社内

 【氏名】 森本 伸彦

【特許出願人】

 【識別番号】 000000376

 【氏名又は名称】 オリンパス光学工業株式会社

【特許出願人】

 【識別番号】 599000980

 【氏名又は名称】 三井情報開発株式会社

【代理人】

 【識別番号】 100058479

 【弁理士】

【氏名又は名称】 鈴江 武彦

【電話番号】 03-3502-3181

【選任した代理人】

【識別番号】 100084618

【弁理士】

【氏名又は名称】 村松 貞男

【選任した代理人】

【識別番号】 100068814

【弁理士】

【氏名又は名称】 坪井 淳

【選任した代理人】

【識別番号】 100091351

【弁理士】

【氏名又は名称】 河野 哲

【選任した代理人】

【識別番号】 100100952

【弁理士】

【氏名又は名称】 風間 鉄也

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 011567

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

【包括委任状番号】 0010297

【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 核酸分子を用いた新規な情報解析方法およびそれを用いた核酸の解析方法

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 演算用核酸を用いた情報処理方法であって、

(a) 複数の任意の情報に応じて、それらの情報をそれぞれの核酸分子に変換すること；

(b) 検出したい条件を示す論理式を反映するように配列を設計された演算用核酸に、(a) で得られた核酸分子をハイブリダイズし、伸長すること；および

(c) 核酸分子の結合様式を検出することにより前記論理式の解が真であるか偽であるかを評価すること；

を具備する核酸分子を用いた情報処理方法。

【請求項 2】 演算用核酸を用いた情報処理方法であって、

(a) 任意の情報に応じて、その情報を存在分子に変換すること；

(b) 所望する情報に対応する有無変換オリゴヌクレオチドと、(a) の工程で得た複数の情報に応じた存在分子とを、ハイブリダイズして伸長し、所望する情報が存在しないために 2 本鎖を形成することのなかった 1 本鎖の有無変換オリゴヌクレオチドを回収すること；

(c) (b) の工程で回収した有無変換オリゴヌクレオチドに結合することにより、不存在分子を抽出すること；

(d) 検出したい条件を示す論理式を反映するように配列を設計された演算用核酸に、存在分子と不存在分子をハイブリダイズし、伸長すること；および

(e) 存在分子と不存在分子の結合様式を検出することにより前記論理式の解が真であるか偽であるかを評価すること；

を具備する情報処理方法。

【請求項 3】 請求項 1 に記載の情報処理方法であって、前記核酸分子が正規直交化核酸であることを特徴とする情報処理方法。

【請求項 4】 請求項 2 に記載の情報処理方法であって、前記存在分子および不存在分子が正規直交化核酸であることを特徴とする情報処理方法。

【請求項 5】 請求項 1 から 4 の何れか 1 項に記載の情報処理方法であって、前記演算用核酸が、複数の配列ユニットから構成され、各ユニットの配列および配列の順序は前記論理式に従って設計されており、更に、その各ユニットへの前記分子の結合と伸長に応じて、前記論理式の真偽が評価されることを特徴とする情報処理方法。

【請求項 6】 請求項 5 に記載の情報処理方法であって、前記演算用核酸には、更にマーカー結合部が含まれ、該マーカー結合部へのマーカーの結合は、前記論理式の真偽に依存してなされる情報処理方法。

【請求項 7】 前記マーカーが蛍光物質であることを特徴とする請求項 6 に記載の情報処理方法。

【請求項 8】 前記任意の情報が標的配列の存在または不存在であることを特徴とし、最終的に得られる解が遺伝子発現の有無を示すものであることを特徴とする請求項 1 から 7 の何れかの情報処理方法。

【請求項 9】 特定の配列をもつ核酸の存在または不存在の論理和若しくは論理積またはそれら両方からなる論理式を評価するための演算用核酸を用いた情報処理方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、新規な情報処理方法およびそれを用いた核酸の解析方法に関する。

【0002】

【従来の技術】

半導体シリコンを用いた計算機はその誕生以来大きく性能を伸ばし、安価に複雑な計算をこなして人類に貢献してきた。これら半導体シリコンを用いた計算機は主に 0 と 1 の 2 値で計算を進めるノイマン型計算機である。

【0003】

コンピュータ科学の分野において研究対象として有名な問題の中に NP 完全問題という問題がある。この問題は、計算時間が問題の大きさの多項式により表せない問題であり、要求される計算時間が問題の規模に対して指数関数的に増加し

ていく問題である。これを完全に解くには全ての可能な解を当てはめて問題が解けるかを検証してゆくしかない。NP完全問題としては巡回セールスマン問題、蛋白質の3次元構造の予想などがある。このNP完全問題を高速に計算するために、近似解を求めるアルゴリズムがいくつも提案されてきたが、これらのアルゴリズムでは厳密解が求まるとは限らない。従って、現在、NP完全問題を厳密にしかも高速に解くには、多数の計算機で並列処理を行うという方法がとられる。

【0004】

このようなノイマン型計算機で解くのが難しい問題を解くために、1994年にエイデルマン (Adleman) によってDNAコンピューティング (DNA computing) と称される新たな計算機パラダイムが提案された (Science, 266, 1021-4)。エイデルマンの思想は、DNA分子を、情報を記録したテープと見なし、情報処理の主体として酵素を用いることによって、チューリング機械の計算過程をDNA分子を用いて実行するというものである。エイデルマンは小規模な巡回セールスマン問題を説くために、DNAを用いて経路に対応するDNAを形成させ、その中から解のDNAを選択する方法を用いた。また、DNA分子で加算を行うというグアニエリ (Guanieri) らによる論文もある (Science, 273, 220-3)。このように分子による演算の可能性についての探索が行われてきた。DNAを演算に用いると次のような点で有利であることが明らかになった。例えば、数十塩基程度の短いDNA分子の1 pmol ($=10^{-12}$ mol) は、100 μ Lの緩衝溶液に容易に溶解し、その上、その分子数は約 6×10^{11} 個にものぼる。従って、この膨大な数の分子が相互作用により解を表す分子を形成するならば、従来のコンピュータを用いて行う並列計算するよりも遙かに大きな並列数で解を求めることができる。また、1 mLにも満たない溶液中でもこの反応は行えるため、加温冷却を行ってもエネルギーはほとんど消費されない。これらのDNAを使った計算機は、多変数の大きな問題に適用したときにノイマン型計算機の処理速度を凌駕すると予測される。

【0005】

一方、近年ではゲノム解析が進み、ヒト遺伝子の全塩基配列も判明した。これ

に先立ち、色々な遺伝子解析方法が考案されている。特に、DNAマイクロアレイ（例えば特開平 1 1 - 2 4 3 9 9 9、特開 2 0 0 0 - 2 7 0 8 9 6）は、強力な遺伝子解析の手段である。これらは、DNAのハイブリダイゼーション反応を利用するものである。例えば、DNAマイクロアレイは、検出する遺伝子に対して相補的な塩基配列を有するプローブDNAを、ガラス基板上に微小スポットで高密度に固定することにより製造される。このDNAマイクロアレイを用いて、正常細胞と異常細胞の遺伝子発現の差異を見たり、1塩基多型を見たりすることが試みられている。例えば、遺伝子型を決定する遺伝子座が複数有り、各遺伝子座の特定の塩基配列の組み合わせにより遺伝子型が複雑に変わる遺伝子がある。このような遺伝子の例としては、白血球の型、HLA（Human Leukocyte Antigen）型がある。HLA型は、種類が多くその塩基置換の箇所も多いため、精密な型判定を行うには多数のDNAプローブを具備したDNAマイクロアレイを用いる必要がある。また更に、マイクロアレイの検出結果を解釈し、HLA型を判定するための工程は、電子計算機（例えば、一般的なコンピュータ等）を用いて算出したり、また判定表に照合して実行している。

【0006】

例えば、従来技術では、複数の遺伝子座により決定される遺伝子型を決定する場合、検体を処理して得た核酸を、DNAマイクロアレイのような多種の核酸の存在を検出するようなデバイス、もしくは多穴プレートの複数のウェルを用いて検出し、それらの検出結果を電子計算機により判定していた。例えば湧永製薬の発売しているHLAタイピング試薬では、遺伝子型ごとに分けた複数のウェルにて別々のハイブリダイゼーション反応を行い、それらのうち発色しているウェルを判定表に照合し遺伝子の型を判定する。このような方法では、少数の遺伝子型を多くの遺伝子座の塩基置換により判定する場合、多くの数のウェルを使用しなければならず無駄が多い。また、判定が複雑なため従来の半導体コンピュータ等の計算機を用いざるを得なかった。

【0007】

【発明が解決しようとする課題】

以上のような状況に鑑み、本発明の目的は、基本的には分子演算の並列性を利

用して従来の電子コンピュータより高速に論理式を評価することが可能な方法を提供することであり、特に、特定の配列を有する核酸を標的としてそれらの存在または不存在を評価すること、また、それによって、例えば、遺伝子型や遺伝子の発現の状態を決定することが可能な方法を提供することである。

【0008】

【課題を解決するための手段】

上記の課題は、以下の手段により解決される。即ち、

演算用核酸を用いた情報処理方法であって、

(a) 複数の任意の情報に応じて、それらの情報をそれぞれの核酸分子に変換すること；

(b) 検出したい条件を示す論理式を反映するように配列を設計された演算用核酸に、(a) で得られた核酸分子をハイブリダイズし、伸長すること；および

(c) 核酸分子の結合様式を検出することにより前記論理式の解が真であるか偽であるかを評価すること；

を具備する核酸分子を用いた情報処理方法である。

【0009】

【発明の実施の形態】

本発明の最も基本となる思想は、核酸分子を用いてデータ並列計算を行うことであり、具体的には、核酸分子を情報を担う媒体として機能させ、その核酸分子が担う情報を酵素やハイブリダイゼーション等の反応によって処理する情報処理方法である。ここで使用する「核酸分子」とは、cDNA、ゲノムDNA、合成DNA、mRNA、全RNA、hnRNAおよび合成RNAを含む全てのDNA並びにRNAを意味する。

【0010】

例えば、分子生物学でよく使用される $100\ \mu\text{M}$ のDNAオリゴヌクレオチド溶液 $1\ \text{mL}$ 中には、 6×10^{16} のDNAオリゴヌクレオチド分子が存在する。1本のDNAオリゴヌクレオチド分子で1文字を表現したとすると60,000,000 Gバイトの記憶容量になる。例えば、ひとつの命令を実行するのに 10^3 秒かかったとしても 6×10^{16} のDNA分子で同時に命令が実行されれば、

1秒当たり 6×10^{13} の命令を実行したことになる。このように核酸分子による並列性は非常に高いものである。従って、核酸分子でデータやプログラムを表現し、その分子反応で命令を実行することにより、従来の電子コンピュータに比べて桁違いに大きなメモリ容量と高い並列処理能力を実現することが可能となる。

【0011】

本発明は、このような核酸分子を用いて計算を実施することによって、核酸解析を行う方法を開示する。また、本発明は、核酸計算を用いてゲノム情報解析を行う一般的な計算方法論を提案するものである。また更に、本発明の方法において、遺伝子の塩基配列を、設計した所望配列を任意に任意に割り当てて変換することにより、反応設計の自由度を高くし、正確な反応を行うことが可能である。

【0012】

以下に本発明の好ましい実施の形態例を示す。

【0013】

1. 第1の実施の形態

本発明の第1の実施の形態について述べる。第1の実施の形態は、細胞で発現された遺伝子をcDNA化し、そこにおける発現遺伝子と非発現遺伝子を人工的に設計した配列をもつDNA分子に変換し、変換により得られたDNA分子を演算用核酸にハイブリダイゼーションすることにより演算解析を行う方法である。ここで、前記DNA分子は、特定の標的遺伝子が存在しているか否かの情報を担う一種の信号として機能する。

【0014】

また、標的遺伝子が存在することを確認することによって当該遺伝子が発現遺伝子であることが、また、標的遺伝子が存在しないことを確認することによって当該遺伝子が非発現遺伝子であることが解析できる。従って、本解析方法では、サンプル中に含まれる標的分子を検出することが可能であるばかりではなく、同様に、サンプル中に含まれない標的分子であってもそれが存在しないことを検出することが可能である。

【0015】

(1) 準備

本解析方法には以下のような分子が必要である。従って、本解析に先駆けて、以下の分子を調製する。当該調製はそれ自身公知の方法により行うことが可能である。

【0016】

溶液に含まれる cDNA を検出するために図 1 に示す 2 つのプローブ、即ち、点線で囲まれた a_i と A_i を準備する。 a_i は、標的の cDNA の一部の配列に相補的な配列を含み且つ 5' 端にビオチンを標識したオリゴヌクレオチドである。 A_i なるオリゴヌクレオチドは部分的にハイブリダイゼーションにより 2 本鎖になったオリゴヌクレオチドである。 A_i を構成する 2 本鎖のうちの一方のオリゴヌクレオチドは、人工的に設計された SD、 DCN_i および ED なる塩基配列を 3' 端側に有し、標的の cDNA の一部分の配列に相補的であり且つ a_i 分子の標的に相補的な配列に隣接するような配列を 5' 端側に有する。また、前記人工的に設計した塩基配列は、当該相補的な配列よりも 3' 末端側に配置される。また、 A_i の標的 cDNA に相補的な配列の 5' 端はリン酸化されている。2 本鎖 A_i を構成するもう 1 方の鎖は SD、 DCN_i および ED の配列に相補的な配列をもつオリゴヌクレオチドである。溶液中に a_i および A_i は、溶液中に存在するまたは存在しないことを検出したい標的遺伝子のそれぞれについて任意に設計する。またこのとき、 DCN_i の配列は標的ごとに異なる配列になるように設計し、SD および ED はすべての A_i で共通する配列になるように設計する。これらの人工的な配列は、任意に設計可能であるので、所望する T_m 値を設定することが可能である。従って、安定に且つミスハイブリダイゼーションの少ない反応を行うことが可能である。

【0017】

また更に、図 5 に示すような 5' 端にビオチン標識をした SD 配列と同じ配列を有するプライマー 1 と、ED 配列に相補的な配列を有するプライマー 2 が必要である (図 5)。

【0018】

更に、図 8 に示すような「標的が存在すること」を示す DCN_i に相補的な配

列を有する存在オリゴヌクレオチド 3 (図 8) と、「標的が存在しないこと」を示す DCN_i^* に相補的な配列を有する不存在オリゴヌクレオチド 6 (図 1 2) が必要である。

【0019】

また、図 9 に示すような有無変換オリゴヌクレオチド 4 が必要である。これは、 DCN_i に対応するように人工的に設計され且つ DCN_i とは異なる配列を有した塩基配列である DCN_i^* を 5' 端側に具備し、その 3' 端側に隣接して DCN_i 配列を具備するオリゴヌクレオチド (図 9) である。

【0020】

(2) 存在分子と不存在分子への変換

本発明の方法では、まず、サンプル中に、特定の標的分子が存在しているという情報を「存在分子」に変換し、特定の標的分子がある系に存在していないという情報を「不存在分子」に変換する。ここで使用する「存在分子」と「存在オリゴヌクレオチド」の語は互いに交換可能に使用される。また「不存在分子」と「不存在オリゴヌクレオチド」も同様に交換可能に使用される。

【0021】

このような分子の存在、不存在を分子表現に変換する方法について図 1 から図 1 2 を用いて説明する。図 1 から 1 2 は、それぞれの工程における系に存在する分子を模式的に示したものである。

【0022】

図中、DNA を矢印により示し、矢印の元部を DNA の 5' 端とし先端を 3' 端とする。矢印の途中に入る該矢印への短い垂線は、塩基配列の区切りを示す部分である。また、図中の矢印の近くに示す、「a」、「A」および「DCN」等のアルファベットは配列の名前を示す。また、「a」、「A」および「DCN」等のアルファベットに付された添え字「i」および「k」は整数であり、それぞれの配列が、どの遺伝子に対応するかを表示するために付されたものであり、ここでは「i」および「k」により任意の配列を示す。また、ここでは便宜的に「i」は発現遺伝子を、「k」は非発現遺伝子を示す。また、配列名の上に線が引かれている場合は、相補的な配列を示す。図中の斜線のある円はビオチン分子を

示し、白い大きい円は磁気ビーズを現す。磁気ビーズから右横に伸びる黒い十字は、該磁気ビーズに固定されたビオチン分子と特異的に結合するストレプトアビジン分子を模式的に示している。

【0023】

a. 「標的が存在する」という情報の「存在分子」への変換

標的が存在する場合の存在分子への変換は図1から8に示す工程を逐次的に行うことにより実施される。

【0024】

まず、図1を参照されたい。上述の通り合成した a_i および A_i を、Taq ライゲースのような高温で活性の高い酵素の反応バッファ中で cDNA と反応させる。但し、このライゲーション反応の温度は A_i オリゴヌクレオチドの2本鎖部分が解離しない温度とする。この反応の結果、標的が存在した場合は、図2のようにライゲースにより a_i と A_i は連結される。次に、この反応溶液から図3に示すようにストレプトアビジンを表面に結合した磁気ビーズにて前記連結オリゴヌクレオチドを抽出する。このとき、未反応の a_i 分子もビーズに捕獲されるが、以後の反応には関係しない。

【0025】

続いて、熱をかけることで、磁気ビーズで捕獲した A_i と a_i の連結分子から A_i 部分の相補鎖を分離抽出する(図4)。この操作によって、最初の溶液に cDNA が存在していれば、それに対応する DCN_i 配列に相補的な配列を含んだオリゴヌクレオチドが抽出される(図4)。この抽出オリゴヌクレオチドをテンプレートとして、5' 端にビオチン標識をした SD 配列と同じプライマーと、ED 配列に相補的なプライマーにて図5のようにPCR増幅反応を行う(図5)。これにより存在していると判明した遺伝子を検出する DCN_i 配列が増幅される。

【0026】

このPCR増幅による2本鎖の産物を、図6に示すようにストレプトアビジン結合磁気ビーズにより捕獲する(図6)。捕獲した2本鎖のPCR産物を捕獲したままで熱をかけて1本鎖にし、解離させた相補鎖を緩衝液交換により除去する

(図7)。続いて図8のように、 DCN_i に相補的な配列をもつ存在オリゴヌクレオチドを、ビーズに捕獲されたPCR産物にハイブリダイズする(図8)。このハイブリダイゼーションの後、過剰な存在オリゴヌクレオチドを除去し、続いて、改めて熱をかけることによってビーズに捕獲されている DCN_i の相補鎖(即ち、存在オリゴヌクレオチド3)をバッファ中に抽出する。ここで抽出された DCN_i に相補的な塩基配列を有する存在オリゴヌクレオチド3が、もとのcDNA溶液中に標的遺伝子が存在することを示す存在分子である。

【0027】

b. 「標的が存在しない」という情報の「不存在分子」への変換

上述の工程により、存在した標的遺伝子を、それが存在するという情報を示す存在分子(即ち、存在オリゴヌクレオチド)に変換した後で、存在しないという情報をこれを示す分子(即ち、不存在オリゴヌクレオチド)に変換する。標的が存在しない場合には、存在しなかったことを示す不存在オリゴヌクレオチドが抽出される。この抽出は以下の通りに実施される。

【0028】

予め、図9にあるような有無変換オリゴヌクレオチドを全ての検出対象の遺伝子の DCN について準備する。上述した通り、有無変換オリゴヌクレオチドは、 DCN_i に相対するために人工的に設計され、且つ DCN_i とは異なる配列を有した塩基配列 DCN_i^* を5'端側に具備し且つ3'端側に隣接して DCN_i 配列を具えたオリゴヌクレオチドである。このような有無変換オリゴヌクレオチドと存在分子とのハイブリダイゼーション反応を利用することにより、「存在しない標的」を検出可能な「不在分子」に変換することが可能である。

【0029】

まず、図9に示す工程において、有無変換オリゴヌクレオチド5に対して、図8の過程で抽出した発現遺伝子に対応する DCN_i の存在オリゴヌクレオチド3をハイブリダイズし、ポリメラーゼにより伸長反応を行う(図9)。その結果、発現遺伝子の DCN_i は伸長し、 DCN_i^* の配列の部分まで相補鎖が合成される(図9)。一方、図10の通り、標的分子が非発現遺伝子(ここでは DCN_k と示す)であった場合、 DCN_k に相補的なオリゴヌクレオチドは反応液中に存

在しないため、有無変換オリゴヌクレオチド5は1本鎖のままで存在する(図10)。これら2本鎖と1本鎖の混合物は、ヒドロキシアパタイトを含むカラムに通すことで1本鎖の有無変換オリゴヌクレオチドのみを抽出することができる(図11)。

【0030】

このように抽出した非発現遺伝子に対応する DCN_k をもつ有無変換オリゴヌクレオチドを、ストレプトアビジンを結合した磁気ビーズに捕獲する(図12)。次に、上述した存在オリゴヌクレオチド3のみの抽出と同様に、 DCN_k^* に相補的なオリゴヌクレオチドをハイブリダイゼーションし、過剰なオリゴヌクレオチドを除去して非発現遺伝子を示す DCN_k^* にハイブリダイゼーションした不存在オリゴヌクレオチド6のみを抽出することができる(図12)。

【0031】

不存在オリゴヌクレオチド6を得るための工程は以下のようにも実施できる。即ち、 DCN_i オリゴヌクレオチドの5'端にFITCなどの蛍光分子を標識しておき、 DCN_i に相補的な配列を有するプローブを含むDNAマイクロアレイにおいてハイブリダイゼーション反応を行う。これをスキャナなどで読み取り、どの DCN_i が存在するかを検出する。このとき同時に、これにより存在していない DCN_k もわかるので、これらのデータから、次の演算のために DCN_k^* なる不存在オリゴヌクレオチド6を準備する。以上により存在しない核酸をその核酸に対応する不存在を示す核酸に変換することが達成される。これにより演算用核酸上での論理演算が可能になる。

【0032】

また、この不存在オリゴヌクレオチド6を作る工程において、1本鎖の有無変換オリゴヌクレオチド6を鋳型として不存在オリゴヌクレオチド6を増幅してもよい。増幅は、例えば、図17から21に示される各工程を経て実施することが可能である。ここで、図17から21は、それぞれの工程を示すものであり、且つ各系に存在する分子を模式的に示したものである。各図中に示される記号等の詳細は上述した通りである。まず、図11の工程に従って、抽出された1本鎖のままの有無変換オリゴヌクレオチド5を得る(図11)。この有無変換オリゴヌ

クレオチド5に対して、図17に示すような、3'端側でSDに相補的な配列と、且つ5'端側でED配列に相補的な配列と結合した DCN_k^* に相補的な配列を有したオリゴヌクレオチド7をハイブリダイゼーションすることで不存在オリゴヌクレオチド6を抽出する。続いて、図18から21に示すような工程により、存在オリゴヌクレオチド3と同様に増幅した DCN_k^* を得ることができる。

即ち、図18に示す工程で、図17の工程において得たオリゴヌクレオチド7に対してビオチン標識したSD配列を有するプライマー1と、ED配列に相補的な配列を有するプライマー2を用いてPCR増幅する(図18)。次に、PCR産物をビオチンをストレプトアビジン分子に結合することにより回収する(図19)。続いて、熱変性により、PCR産物を1本鎖にする(図20)。続いて、 DCN_k^* に相補的な配列をもつ不存在オリゴヌクレオチドを、ビーズに捕獲されたPCR産物にハイブリダイズする(図8)。このハイブリダイゼーションの後、過剰な存在オリゴヌクレオチドを除去し、続いて、改めて熱をかけることによってビーズに捕獲されている DCN_k^* の相補鎖(即ち、不存在オリゴヌクレオチド6)をバッファ中に抽出する。ここで抽出された DCN_k^* に相補的な塩基配列を有する不存在オリゴヌクレオチド6が、即ち、もとのcDNA溶液中に標的遺伝子が存在しないことを示す不存在分子である。

【0033】

(2) 演算工程

演算工程では、上述で得られた存在分子および不存在分子と、以下に説明する演算用核酸とのハイブリダイゼーションおよび相補鎖合成とを行うことにより、所望する条件を現す演算式を解き、該条件を満たす解を求める並列計算を行う。

【0034】

演算の例として演算式として式1を用いる。ある特定の配列 DCN_1 、 DCN_2 、 DCN_3 および DCN_4 を標的配列とし、その有無の条件について論理式として示した式1を、演算用核酸と存在分子および不存在分子とのハイブリダイゼーション反応と伸長によって演算して値を評価する。式1は、 DCN_1 、 DCN_2 、 DCN_3 および DCN_4 についての所望する有無についての組合せを条件として示している。即ち、本例では式1の解を求めるということは、あるサンプル

中における複数の標的配列の有無を同時に評価することである。

【0035】

【数1】

式1

$$(DCN_1 \wedge \neg DCN_2) \vee (\neg DCN_3 \wedge DCN_4)$$

式中、「 \neg 」は「否定」、「 \wedge 」は「論理積」、
「 \vee 」は「論理和」を表す記号である。

【0036】

演算用核酸に設定した条件を満たす場合は、当該式の値は「1」、即ち「真」となる。また、演算用核酸に設定した条件が満たされない場合は、当該式の値は「0」、即ち「偽」となる。また本発明は、基本的な排他的論理和を達成している。従って、この組合せを用いればプール代数の全ての論理演算を実現できることが可能である

図13に示すのが演算用核酸8の配列構造である。演算用核酸は1本鎖のオリゴヌクレオチドであり、図では矢印で示している。矢印の向きは5'端から3'端に向かっている。5'端にはビオチン分子が付いている。演算用核酸は複数のユニットを含む。その塩基配列は、5'端から順に、マーカー分子が結合するM₁、DCN₁が存在しないときに得られるオリゴヌクレオチドを検出する配列DCN₁^{*}、DCN₂、ポリメラーゼによる相補鎖伸長が止まるような配列を具えたストッパ配列S、2つ目のマーカーが付くM₂、DCN₃、DCN₄^{*}である。この演算用核酸の配列は、論理式の各項の並びにほぼ対応する。論理式の「否定」もそのままの配列となる。例えば、「DCN₄」配列の存在が「否定」される場合には、「DCN₄^{*}」の配列を用いる。ここで、DCN₄^{*}は上述した通りのDCN₄の対応するように設計された人工的な配列である。また、「論理和」記号はS配列に置き換えればよい。「論理積」は演算用核酸上の配列として置き換える必要はない。式1のための演算用核酸の演算は、表1の各条件を満たす

ときに、その値が1になる。表1中「—」はどのような状態でもよいことを示す。

【0037】

【表1】

DCN ₁	DCN ₂	DCN ₃	DCN ₄	式の値
発現	非発現	—	—	1
—	—	非発現	発現	1

【0038】

以下、論理式を評価する核酸反応について、その工程を説明する。演算工程は図14から16の工程を含み、演算反応は次の手順で行う。先に述べた論理式の演算を行うときには、図13に挙げた配列を具備した演算用核酸を準備する。1つのチューブに対して1種類の演算用核酸を入れ、それに先の工程で得た存在オリゴヌクレオチドと不存在オリゴヌクレオチドを含む溶液を入れ、ハイブリダイゼーション反応を行う（図14）。ここで、仮に、DCN₁、DCN₃、DCN₄が存在し、DCN₂が存在しないならば、演算用核酸にハイブリダイゼーションするのはDCN₃のみである（図14）。また、ハイブリダイゼーション反応後、Taqポリメラーゼなど高温でも活性のある酵素により、ミスハイブリダイゼーションがおきない条件下で伸長反応を行うと、図15のようにM₂配列部分は2本鎖となりS配列で伸長が止まる（図15）。

【0039】

次に、ストレプトアビジン磁気ビーズにより反応が終了した演算用核酸を捕獲する（図16）。最後に、検出反応としてマーカーオリゴヌクレオチドのハイブリダイゼーション反応を行う（図16）。図16では、担体上に固定された演算用核酸を示しており、その5'端のビオチン分子は担体上にあるストレプトアビジン分子に結合している。さらにマーカー検出配列に相補的な配列をもつマーカーオリゴヌクレオチドM₁、M₂を準備する。これらマーカーオリゴヌクレオチドの5'端には蛍光を発する分子が付いている。この例では、演算用核酸のM₁

配列は2本鎖化されていないので当該マーカ-は演算用核酸に結合することが可能である(図16)。このあと、結合していないマーカ-を除去してビーズを蛍光観察すれば、マーカ-オリゴヌクレオチド M_1 がハイブリダイゼーションして蛍光を発するため演算結果得られる論理式の値は「1」であることが分かる。

【0040】

上述では、S配列をストッパーとして使用したが、S配列を必ずしも配置する必要はなく、その代わりとしてS配列をなくし、演算用核酸をS配列の両側にそれぞれ分けてもよく、または相補鎖が形成されないように人工的な塩基を具えたヌクレオチドを含ませてもよい。或いは、他の配列部分にシトシン塩基が含まれないように設計し、S配列の塩基配列にシトシン塩基が含まれるように設計することによっても、同様の効果が得られる。この場合、後述の図15に示す演算用核酸上での伸長反応の際にモノマーとしてdGTPを別途加えなければ伸長反応はS配列上で停止する。また或いは、ポリメラーゼが伸長反応を停止し易いグアニンやシトシンの連続した塩基配列としてもストッパーとしての目的を達成できる。或いは、S配列に相補的なPNAを演算用核酸にハイブリダイゼーションさせておけば、DNAとDNAのハイブリッドよりも、DNAとPNAのハイブリッドは安定であるため、5'エクソヌクレアーゼ活性のあるポリメラーゼであっても除去することなどできないのでS配列がストッパーとして機能する。

【0041】

また、マーカ-オリゴヌクレオチドの蛍光標識の種類を増やしてもよい。現在は、数多くの蛍光色素が開発されており異なる核酸に異なる蛍光色素を標識することが可能である。そのようにすれば、同時に多くの演算用核酸を標識することができる。例えば、この実施の形態において、 M_1 マーカ-オリゴヌクレオチドと M_2 マーカ-オリゴヌクレオチドとの間で蛍光分子を変えれば、検出した際に論理式の括弧で囲まれたどちらの条件が充足されたのかが判明する。また、演算用核酸毎にマーカ-配列を変え、マーカ-オリゴヌクレオチドに標識する蛍光分子も変えれば、1つのチューブに複数種類の演算用核酸を入れて同時に演算反応をすることができる。更にまた、蛍光強度は演算核酸の表現する論理式の充足度に比例するので、その大きさを知ることとも可能である。

【0042】

また、演算結果を得るに当たって、次のようなこともできる。即ち、この実施の形態における存在オリゴヌクレオチドと不存在オリゴヌクレオチドを増幅する工程において、PCR反応を増幅が飽和するように十分なサイクル数行えば、「存在」を「1」、「不存在」を「0」とする2値の論理演算が可能である。一方、PCR反応を増幅を飽和させず、元のcDNAの存在量に比例した量だけ得られるようにサイクル数を抑えれば、論理式を区間[0, 1]で確率的に評価することができる。例えば、発現遺伝子の場合は発現量に応じた結果が得られ、ゲノム配列であれば、ヘテロ接合かホモ接合かの違いを演算結果で知ることができる。

【0043】

さらに演算用核酸をDNAマイクロアレイのように、基板上に微小スポット状に固定し、その場所と演算用核酸の論理式が対応するようにアドレッシングしておいてもよい。このようにしたときはマーカーオリゴヌクレオチドには蛍光標識をしておくのが好ましい。先に述べた演算反応をマイクロアレイ上の演算用核酸で行うと、DNAマイクロアレイの読みとり用スキャナで演算結果を読みとることができる。

【0044】

また、このマーカーオリゴヌクレオチドにビオチン分子を標識していてもよい。このとき、演算用核酸の5'端にはビオチンを付けず、3'端、5'端にクローニングのための制限酵素認識配列を含むものにする。さらに反応においては図16に示すような演算用核酸をストレプトアビジン磁気ビーズにより捕獲する工程を行わない。この場合の検出反応はマーカーオリゴヌクレオチドをハイブリダイゼーション反応した後で、ストレプトアビジン磁気ビーズによって演算用核酸をハイブリダイズしたマーカーオリゴヌクレオチドもそうでないものも両方とも捕獲し、捕獲した演算用核酸をクローニングし、シーケンサーで塩基配列を読み取る。それにより演算結果が「1」となる演算用核酸を確認することができる。このようにすれば1つのチューブに複数種の演算用核酸を入れて反応を行うことができる。

【0045】

ここでは、4つの標的配列を用いた例を用いたが、更に多くの標的配列を対象とすることも可能である。また、ここでは、ビオチンとストレプトアビジンを回収を行うためのタグとして使用したが、これに限られるものではなく、タグとこれに対して高親和性を有するものであればどのような物質を使用してもよい。

【0046】

2. 第2の実施の形態

次に第2の実施の形態を示す。第2の実施の形態では、第1の実施の形態において用いたDCN配列として、正規直交化配列を用いる。「正規直交化配列」とは人工的に設計した塩基配列であって、「正規」とは融解温度(T_m)が揃っていることを示し、「直交化」とはミスハイブリダイゼーションが起きず、自己分子内で安定な構造をとらないということを意味する。

【0047】

これらの配列は電子計算機の計算によって求めることが可能である。例えば、15塩基の正規直交化配列を求めるには、任意の5塩基をランダムに生成する。これら短い塩基配列を「タプル」と呼ぶことにする。5塩基長のタプルは $4^5 = 1024$ 種類ある。これらタプルの中から3つを選んで連結し15塩基を構成する。この連結に用いたタプルに相補的なタプルは以降の連結には用いない。ここで、これらを連結した15塩基の配列の T_m が $\pm 3^\circ\text{C}$ 以内に揃うような15塩基のセットを作る。また、自己分子内で安定な構造を取るかどうかを計算し、安定な構造をなすならばそのような15塩基は排除する。

【0048】

最後に全ての配列同士で互いに安定な2本鎖を形成しないかを検証する。以上の方法で生成した15塩基の配列は反応温度を適切に選べば互いにハイブリッドを形成せず、混在しても独立したハイブリダイゼーション反応をするのでより好ましい。これら正規直交化配列を特定の遺伝子塩基配列と対応関係を持つように核酸 a_i と A_i の配列を選び第1の実施の形態に従って反応を行えば、反応条件がより簡単になり、しかもより正確な演算反応を行うことが可能である。

【0049】

3. 第3の実施の形態

続いて、本発明の第3の実施の形態について述べる。本発明の方法は、複数の遺伝子座にそれぞれ特定の塩基配列が存在することで決まるような遺伝子型を判定するためにも使用できる。第3の実施の形態は、そのような遺伝子型を判定する方法の例である。

【0050】

遺伝子型に対応する論理式を設定し、その論理式に基づき演算用核酸を設計する。それにより、電子計算機や判定表を用いずに遺伝子型を判定することができる。具体的には、例えば遺伝子座1で塩基A、遺伝子座2で塩基T、遺伝子座3で塩基Gであるとき遺伝子型Aと判定でき、また、遺伝子座1で塩基A、遺伝子座2で塩基C、遺伝子座3で塩基Tであるとき遺伝子型Bであり、また、遺伝子座1で塩基A、遺伝子座2で塩基C、遺伝子座3で配列Gであるとき遺伝子型Cと判定できるならば、それぞれを満たす論理式は表2の右端欄に示す通りになる。

【0051】

【表2】

	遺伝子座1	遺伝子座2	遺伝子座3	満たすべき論理式
遺伝子型A	A	T	G	$A \wedge T \wedge G$
遺伝子型B	A	C	T	$A \wedge C \wedge T$
遺伝子型C	A	C	G	$A \wedge C \wedge G$

【0052】

遺伝子型判定はそれぞれの論理式と対応する演算用核酸により演算反応を行う。まず、式の各要素について遺伝子座に特定の配列が存在する場合の値を1とし、不存在の時を0とし、最終的に式全体の値が1となる式があるならば、その式に対応する遺伝子型が判定結果となる。このような核酸を用いた演算は本発明の方法により、遺伝子座が多くあり且つ遺伝子型は極少ないような遺伝子の型判定が、複雑な表や電子計算機を必要としない簡便なものとなる。

【0053】

4. 第4の実施の形態

次に、第4の実施の形態について述べる。更にまた、本発明の方法は、癌細胞の遺伝子発現において各種遺伝子がどのような発現、非発現の条件（即ち、状態）下にあるかの調べることが可能である。第1の実施の形態から第3の実施の形態に対して、これは所謂「逆問題」とも呼べる。そのような方法の例を以下に示す。

【0054】

予め、様々な論理式を表す演算用核酸を準備する。この演算用核酸は、5'端をリン酸化した各種の論理式要素、すなわち DCN_i 、 DCN_i^* 、S、M等からなる配列を有する。これらに加えて、例えば、図22に示すような論理式要素を連結するための連結用相補核酸9を準備する。連結用相補核酸9の配列は、連結を所望する仕切部分に隣接して存在する2つの部分の配列に相補的な配列を有すればよい。

【0055】

これら核酸をハイブリダイゼーションし、ライゲースで連結反応すれば任意に論理式要素が結合された演算用核酸が得られる。連結用相補核酸の配列を十分考慮して設計することで論理式として不適当なものが生成されないようにできる。

【0056】

この演算用核酸を用いて逆問題を解くには、癌細胞から取得したcDNAを第1の実施の形態にしたがって、論理式要素の配列に変換し、あらかじめ準備しておいた様々な論理式を表す演算用核酸により論理演算を行う。最後にこれら演算用核酸が表現する論理式のうち、満たされるものがあるかどうかを検出する。このうち、論理式の値が1となった演算用核酸の意味する内容を解釈することによって、どのような遺伝子の発現、非発現状態が満たされる条件にあるのかを解明することが可能である。或いは少なくともその部分条件を解明することが可能である。

【0057】

任意に作製した演算用核酸の配列を同定するには、1つの容器において反応し、第1の実施の形態のビオチン分子を結合したマーカーオリゴヌクレオチドにてストレプトアビジン磁気ビーズに演算用核酸を回収し、シーケンシングして演算

分子の内容を読みとる方法で論理式を読み取ることが好ましい。また、任意に作製せずとも、論理式を決めて連結により合成する方法で行うときには、それら論理式をDNAマイクロアレイにアドレッシングして固定し、検出時に論理式を確認してもよく、1つの容器に1種類の演算用核酸を入れて反応しても良い。

【0058】

これらの結果を正常細胞と比較すれば、未知のゲノム塩基配列の組み合わせにより生ずる遺伝病や、未知の遺伝子発現の組み合わせによって生ずる遺伝子異常による癌などの疾病の原因遺伝子を容易に特定することができる。

【0059】

[まとめ]

従来の技術には、特定の核酸が存在しないことを核酸表現に変換できる技術はなく、また、そのような思想すらない。例えば、mRNAの発現状態を検出するにはDNAマイクロアレイがよく用いられている。このマイクロアレイには既知の遺伝子塩基配列をもとに設計したオリゴDNA、またはあらかじめ取得したcDNAをプローブとしてスライドガラス上にアレイ状に固定している。このマイクロアレイで発現を検出するにはmRNAから蛍光標識したcDNAを作製し、マイクロアレイのプローブとハイブリダイゼーション反応させ、特定の配列のプローブを固定した場所に特定の標識したcDNAが結合して光ることによって検出する。ところが、発現していないmRNAからは標識cDNAが作製できないので、遺伝子が発現していないことを検出できない。すなわち、実験中にmRNAが失われたり、遺伝子が発現しているにもかかわらず生成される蛍光標識cDNAが少ないために不存在であると判定されることがある。

【0060】

また、遺伝子核酸を反応させるとき、数多くの遺伝子が混在した状態では思わぬ核酸同士がハイブリッドを形成して反応することがある。また、塩基配列に含まれるグアニンやシトシンなどの2本鎖を安定させる塩基の数が、遺伝子核酸によってまちまちであればハイブリッドを形成する最適な温度が異なるために全ての核酸がミスマッチのない適切なハイブリッドを形成するとは限らない。さらには自己分子内で構造をとり、標的配列との反応性が低くなるような塩基配列をも

つ核酸が混在していて思った反応が進まないこともあり得る。

【0061】

また、化学発光など酵素を用いた検出法は高感度であるが、検出のための処理が面倒で時間がかかる。また、1チューブ内で複数の種類の化学発光を行うことは難しい。また、演算用核酸を用いて演算した場合、その結果を見るのに単一の発色もしくは発光反応では1チューブで1種類の演算用核酸しか反応できない。

【0062】

また、核酸の存在条件に基づいて作った論理式は演算用核酸に書き換えることができる。ところがおよそ世の中に存在する問題は所謂「逆問題」である。例えば遺伝病における各遺伝子の発現状態について調べたとき、どのような遺伝子核酸の存在、不存在の条件が満たされれば病気になるのかが問題で、遺伝子核酸の存在、不存在の論理式を求めることが問題である。この問題は、DNAマイクロアレイのデータを大型計算機でクラスタ解析を行って解いていた。

【0063】

また、本発明は上記のような従来の状況も打破することが可能な方法である。

【0064】

ここでは、特に、遺伝子解析のための方法を示したが、本発明はその範囲を超えることなく種々の並列計算による情報処理を行うことが可能である。即ち、遺伝子解析以外の情報の並列処理に関しても、優れていることは当業者には容易に理解されるであろう。

【0065】

【発明の効果】

本発明の方法により、遺伝子解析、特に、複数の標的配列の発現と非発現の条件を簡便に解析することが可能である。具体的には、複数の標的配列の有無の状態をシンプルな1つの値として得ることが可能である。従って、従来のように多数且つ複雑な実験結果を、電子計算機または判定表によって判定するという工程を行わずに、結果を読みとるだけで判定ができる。

【0066】

本発明では、存在しない分子に関してもそれぞれの配列ごとに可視的な分子に

変換し、DNA分子として情報化することが可能である。これにより所望する条件を演算式として設計することが容易になり、これにより、単純な解として複数の条件について評価することが可能である。演算用核酸上にマーカー配列を配置することによって、演算用核酸上でどのようなハイブリッドが形成されているかが容易に判明する。これによっても、存在しない分子をその分子に対応する不存在を示す分子に変換することが達成される。以上により、演算用核酸上での論理演算が可能になる。

【 0 0 6 7 】

人工的に設計した正規直交化配列をもつ核酸を使用することにより、予期しない異常反応を防止することができ、正確な演算結果が得られる。

【 0 0 6 8 】

また、本発明の方法により、論理式の値が1となった演算用核酸の意味する内容を解釈することで、どのような遺伝子の発現、非発現状態にあるのかを解明することが可能である。これにより、癌や遺伝子病に関与する遺伝子を新たに解明することも、また、遺伝子病の診断を行うことも可能である。特に、演算用核酸のライブラリを作製し、遺伝子の存在、不存在の状態を検出することで逆問題を解けば、大型計算機によるクラスタ解析などを要することなく少ない計算機資源で疾患に関与する遺伝子を知ることができる。

【 0 0 6 9 】

更に、遺伝子の多型を解析するためにも本発明は非常に有効である。即ち、本発明の方法は、単一ではなく複数の遺伝子座における塩基配列の差異を検出することで遺伝子型を判定することが可能である。本判定方法は、特定の塩基配列の存在の論理積を求めることにより達成される。従来では、このような論理積は電子計算機に結果を入力したり、表を見て人間が判断するなどの手段により求めていた。本発明の方法は、そのような方法に比べて簡便に試験を実施することが可能であり、且つ容易に判定を行うことが可能である。

【図面の簡単な説明】

【図 1】

遺伝子検出反応工程における各分子の状態を示す模式図。

【図 2】

標的が存在した場合の反応系における各分子の状態を示す模式図。

【図 3】

ストレプトアビジン磁気ビーズによる捕獲工程における各分子の状態を示す模式図。

【図 4】

DCN_i の抽出工程における各分子の状態を示す模式図。

【図 5】

抽出工程で得られた DCN_i に相補的な配列の増幅の模式図。

【図 6】

図 5 の増幅により得られた増幅産物を捕獲する工程における各分子の状態を示す模式図。

【図 7】

熱変性により一本鎖化する工程における各分子の状態を示す模式図。

【図 8】

発現遺伝子の情報を存在分子に変換する工程における各分子の挙動を示す模式図。

【図 9】

非発現遺伝子を検出し、不存在分子に変換するための最初の工程における有無変換オリゴヌクレオチドと存在分子の反応を示す模式図。

【図 10】

ある非発現遺伝子のための有無変換オリゴヌクレオチドの状態を示す模式図。

【図 11】

有無変換オリゴヌクレオチドの抽出工程における分子の状態を示す模式図。

【図 12】

ストレプトアビジンを固定した磁気ビーズによる DCN_k * の捕捉とハイブリダイゼーションによる抽出工程における各分子の状態を示す模式図。

【図 13】

演算用核酸を示す模式図。

【図 14】

演算用核酸と存在分子および不存在分子とのハイブリダイゼーション工程における各分子の状態を示す模式図。

【図 15】

図 14 の工程の後に演算用核酸にハイブリッドした前記分子を伸長する工程における各分子の状態を示す模式図。

【図 16】

マーカーオリゴヌクレオチド M_1 および M_2 による計算結果の検出工程における各分子の状態を示す模式図。

【図 17】

不存在分子の増幅のために不在分子を抽出回収する工程における各分子の状態を示す模式図。

【図 18】

不存在分子の増幅のための PCR 工程における各分子の状態を示す模式図。

【図 19】

図 18 の工程により生じた増幅産物を捕獲する工程における各分子の状態を示す模式図。

【図 20】

図 19 の工程で回収された増幅産物を 1 本鎖にする工程における各分子の状態を示す模式図。

【図 21】

図 20 の工程の 1 本鎖に対する不存在分子のハイブリダイゼーションを行う工程における各分子の状態を示す模式図。

【図 22】

演算用核酸のランダムライブラリの作製方法において使用する連結用相補核酸と、連結対象となる演算用核酸の一部分を示す模式図。

【符号の説明】

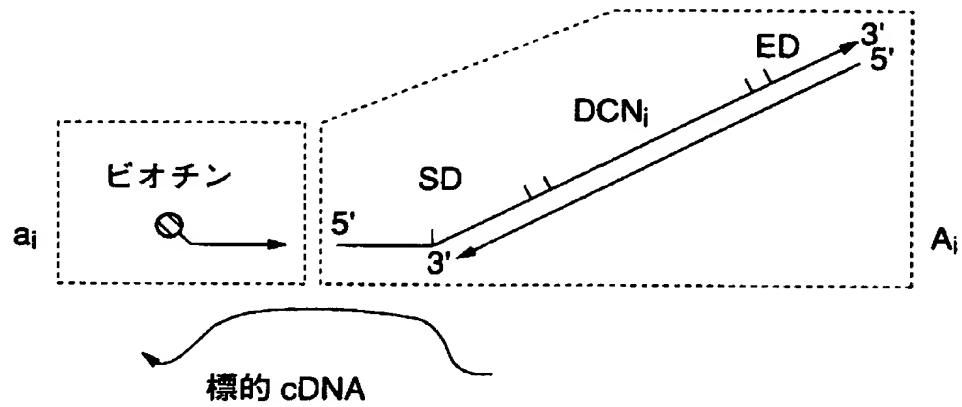
1. プライマー 2. プライマー 3. 存在分子 4. 有無変換オリゴヌクレオチド
5. 有無変換オリゴヌクレオチド 6. 不存在分子 7. ヌ

クレオチド 8. 演算用核酸 9. 連結用相補核酸

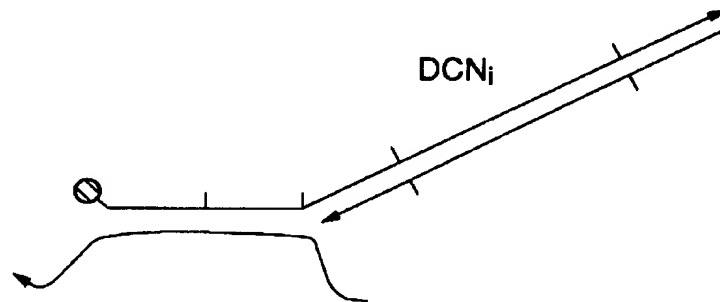
【書類名】

図面

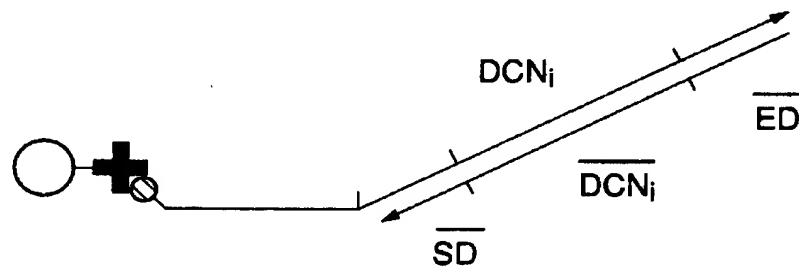
【図 1】



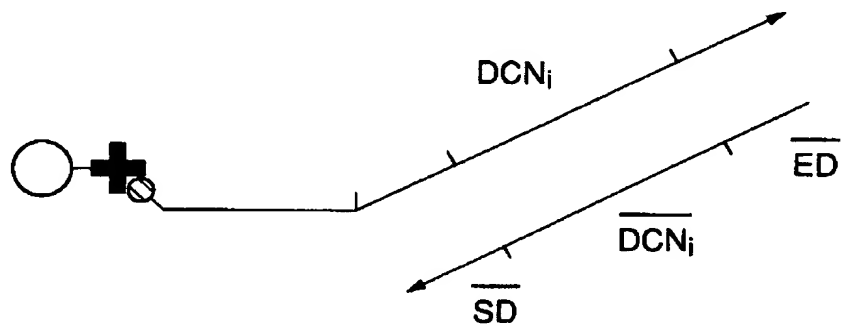
【図 2】



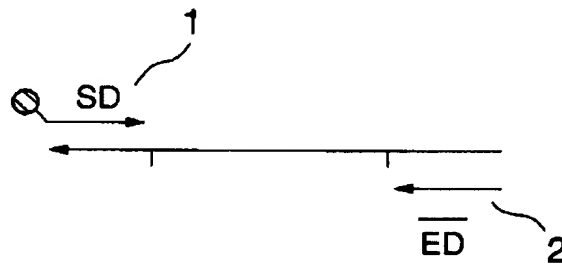
【図 3】



【図 4】



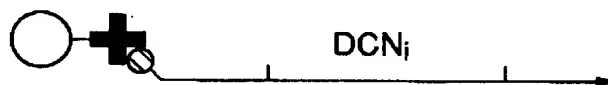
【図 5】



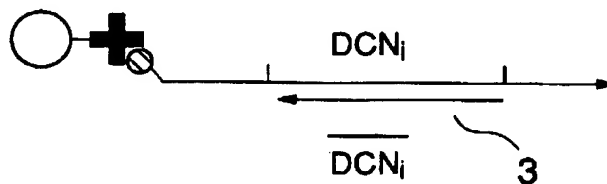
【図 6】



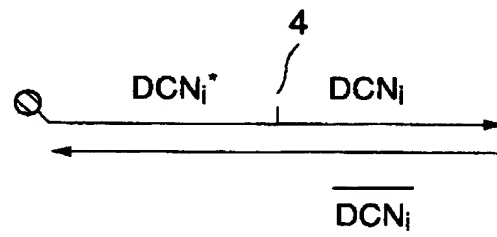
【図 7】



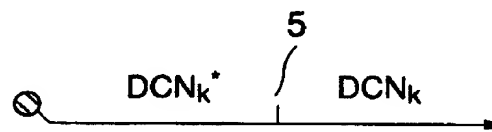
【図 8】



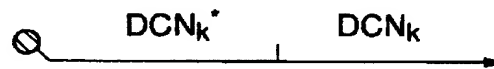
【図 9】



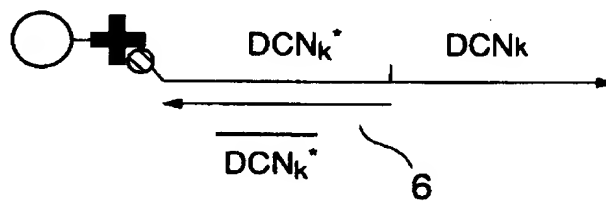
【図 1 0】



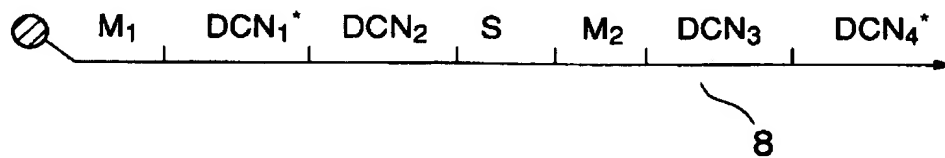
【図 1 1】



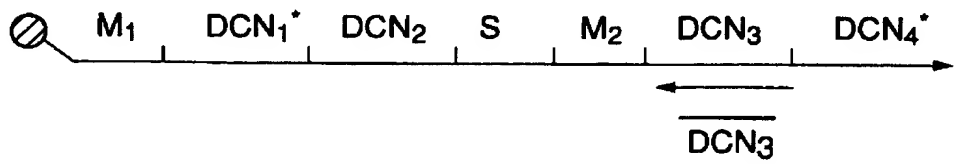
【図 1 2】



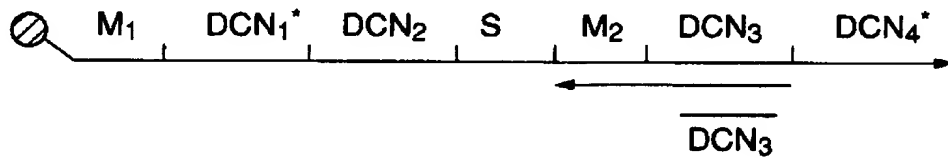
【図 1 3】



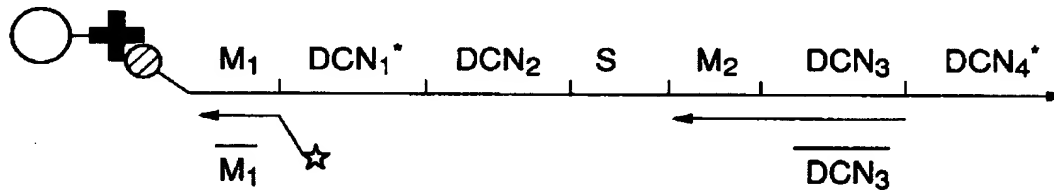
【図 14】



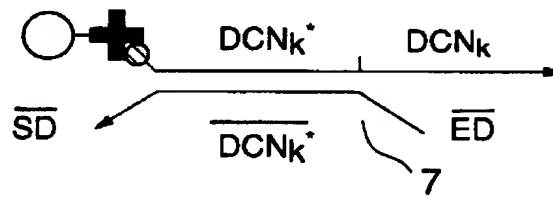
【図 15】



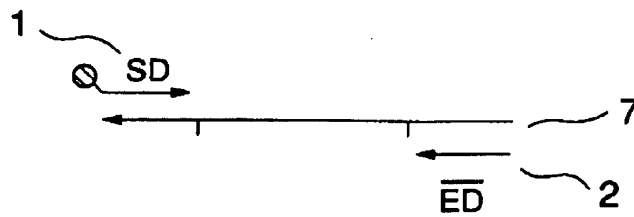
【図 16】



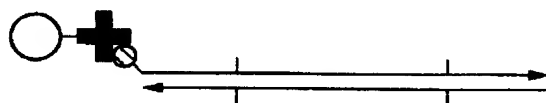
【図 17】



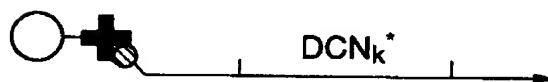
【図 18】



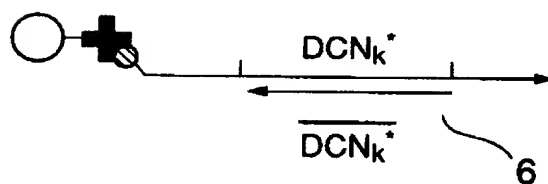
【図 1 9】



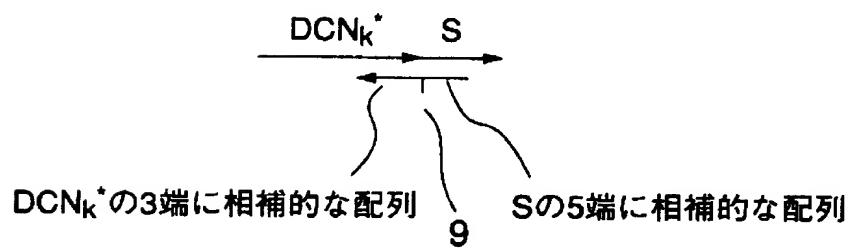
【図 2 0】



【図 2 1】



【図 2 2】



【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 分子演算の並列性を利用して従来の電子コンピュータより高速に論理式を評価することが可能な方法を提供する。特に、特定の配列を有する核酸を標的としてそれらの存在または不存在を評価すること、また、それによって、遺伝子型や遺伝子の発現の状態を決定することが可能な方法を提供する。

【解決手段】 演算用核酸を用いた情報処理方法であって、（a）複数の任意の情報に応じて、それらの情報をそれぞれの核酸分子に変換すること；（b）検出したい条件を示す論理式を反映するように配列を設計された演算用核酸に、（a）で得られた核酸分子をハイブリダイズし、伸長すること；および（c）核酸分子の結合様式を検出することにより前記論理式の解が真であるか偽であるかを評価すること；を具備する核酸分子を用いた情報処理方法。

【選択図】 なし

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号 [000000376]

1. 変更年月日	1990年 8月20日
[変更理由]	新規登録
住 所	東京都渋谷区幡ヶ谷2丁目43番2号
氏 名	オリンパス光学工業株式会社

出 願 人 履 歷 情 報

識別番号 [599000980]

1. 変更年月日	1998年12月25日
[変更理由]	新規登録
住 所	東京都中野区東中野2丁目7番14号
氏 名	三井情報開発株式会社